

刺绵蚧真菌病的初步研究

陈 祝 安

(浙江青田油茶研究所)

摘要 刺绵蚧多毛菌 (*Hirsutella* sp.) 对刺绵蚧有较强的病原性。本菌对雌雄幼蚧、雄性预蛹以及老熟母蚧均有感病力。而暴发期往往落在老熟母蚧期。

此菌在一般培养基上生长繁育良好。而且适应温度范围较宽, 人工接种平均气温 11—27℃、相对湿度在 80% 以上都能致病。

菌体通过昆虫、水流等媒介物触及传染, 每当种原中心建立之后, 病菌就不断地向周围散布, 成为再次传染源。

刺绵蚧多毛菌 (*Hirsutella* sp.) 是寄生在刺绵蚧 (*Metacaronema japonica* Mask.) 虫体内, 引起害虫大量死亡的病原微生物。1967 年, 我们从油茶煤污病主要诱病媒介——刺绵蚧自然寄体上发现此菌。1972 年分离提纯, 并通过林间回接试验, 致死率很强。为了发掘和筛选有效的昆虫寄生菌, 供农林业生产应用, 我们对该菌某些性状以及若干和利用有关的问题, 进行了观察和实验, 现择要整理如下。

一、自然感染和发病征状

(一) **环境因子和致病性** 刺绵蚧多分布在海拔 300—800 米油茶林里, 在蚧虫猖獗为害后期, 常见该病发生和流行。1972 年 6 月, 我们对两个高发点进行考查, 自然寄生率达 39—98.5%。发病率高的植株上, 蚧虫已近乎毁灭 (表 1)。

表 1 两个高发林分自然寄生情况 (1972)

地 点	调查日期 (月·日)	调查株数	自然寄生率 (%)		
			最 高	最 低	平 均
平塔大队分勘下	6.1	30	98.5	39.0	74.7
下寮大队毛山勘门	6.19	35	97.1	39.1	71.8

林间多点考查看出, 本菌自然发生与海拔高度、坡向、树冠郁闭度、寄主栖居部位 (冠上或冠下)、植被等所构成的小气候无明显影响。种源是造成本病流行的决定因素。每当种源中心建立以后, 病菌就不断地向周围传播, 造成大量个体死亡 (表 2)。

蚧生真菌致病性和温湿度关系十分密切。气温适宜, 林间盛发期都在阴雨连绵或多雷阵雨的湿润天气。根据黄山头大队冷水坑标准地的观察, 刺绵蚧真菌病集发期一般是在 4 月份。例如 1971 年致病高峰是在 4 月 20 日。这个月的天气状况是: 阴雨日 15 天 (或夜雨昼晴), 月平均气温 18.2℃, 平均相对湿度 81.7%, 绝对最高温 32.8℃, 绝对最低温 5.1℃。1972 年致病高峰在 4 月 15 日前后。而一个月阴雨日 20 天, 月平均温度 16.2℃, 平均相对湿度 81.5%, 绝对最高温 33.5℃, 绝对最低温 0.7℃。该菌适应温度范围较宽, 从

表 2 种源和致病性的关系 (1971)

标 准 地 名	海 拔 (米)	坡 向	树冠郁闭	种 源	虫口指数	寄生程度*
黄山头大队冷水坑	600	东	0.5	有	—	++
平坦大队路边	550	北	0.7	有	51.4	+++
下寮大队毛山岭	500	南	0.6	有	50.5	++
下寮大队毛山坳	500	东北	0.5	有	77.1	+++
黄山头大队竹岭	400	东	0.7	有	33.0	+
后弄圩大队神坛	460	北偏东 30°	0.5	无	46.0	—
黄山大队寮大丘	530	北偏西 20°	0.6	无	73.5	—

* 无寄生—; 少量寄生+; 普遍寄生++; 严重寄生+++。

全年发生季节看, 除 12、1、2 月份气温较低未见发生外, 其他各月均能见到感病死亡的个体。人工接种试验表明, 平均气温 11—27℃, 相对湿度大于 80% 者, 都能致病。但感病最适平均气温为 18—23℃。

寄主不同生育期致病性也不一样。本菌对刺绵蚧雌、雄幼虫期, 老熟母虫期有较强的致病力, 暴发期多落在 4 月份老熟母虫期。被寄生的个体, 大部分不能产卵而死亡。少数虽能形成卵囊, 但没有产卵或产极少量卵就丧命。对雄虫蛹、雄成虫、卵未见有寄生现象, 卵块浸菌液接种, 亦未见发病 (图 1)。

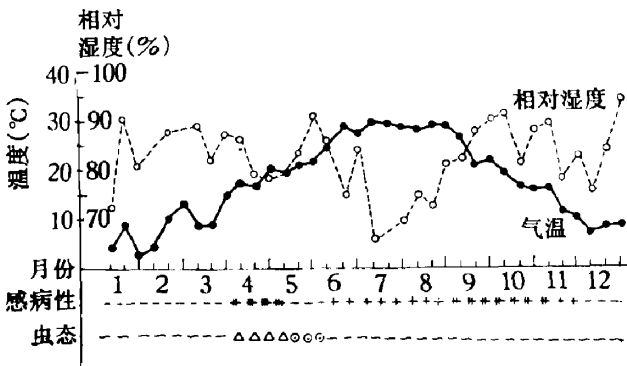


图 1 寄主感病和温湿度的关系 (1971)

~ 幼虫; Δ 老熟母蚧; ○ 卵; + 轻度感病;
++ 普遍感病; +++ 严重感病; - 不发病。

(二) 侵染途径和孢子传

播 受本菌寄生个体一般存留在枝叶上时间较长, 有的竟至一年以上, 每逢温湿度适合, 就能产生大量孢子, 成为再次侵染源。1973 年, 我们从林间采集了不同时期感病致死体, 观察本菌在自然条件下的存活时间, 检验方法是: 在室温下保湿, 使它产生孢子堆, 凡能产生孢子的算作活菌。结果看出, 一年以前感病致死的 48 个

样品中, 就有 38 个能产生孢子堆 (表 3)。寄体在林间保存时间长, 就能不断地产生孢子, 增加了再次侵染的机会, 有利于杀虫作用, 这是本菌利用上的一个很好特性。

表 3 林间菌体存活时间 (1973)

试验日期 (月.日)	样 本 来 源	自然保存期 (月)	试验温度 (°C)	保湿天数	供试样本	产 孢 样 本 数	有产孢力 样本 (%)
4.11	1972 年 9—10 月感染致死虫体采自下寮毛山队	6—7	18.5—21.0	4	23	15	65.2
4.12	3 月 30 日用分离所得纯种 A(13)号接种感染致死体	0.5	18.5—21.0	3	3	3	100.0
4.19	1972 年 4 月感病致死体采自下寮毛山生产队	12	17.5—22.0	4	48	38	79.1
9.14	1972 年 4 月感病致死体采自下寮毛山生产队	17	23.5—26.2	4	20	0	0.0

刺绵蚧系刺吸式口器昆虫，一般病原菌从口器进入虫体机会不多。通过菌液喷雾和涂刷法接种，初步验证该菌系接触传染（表 4）。

表 4 利用自然寄生虫体接种致死情况 (1971)

接 种 日 期 (月.日)	试 验 地 点	处 理 方 法	供 试 虫 数	致 死 虫 数	致 死 率 (%)	备 注
4.6	七丘坑边	菌液喷雾 涂 抹	250	71	29.6	9月14日所用菌 液系感病致死体 45克砸碎加清水 7公斤滤液喷雾
			266	157	59.0	
9.14	竹 园 山	菌液喷雾 对照喷清水	4,597	908	19.7	
			748	0	0	

以上提过,林间宿存寄生虫体在适温高湿条件下,能产生大量孢子堆。但是孢子如何传播? 通过何种媒介物把病菌带到健康寄主身上? 根据几年来林间考察材料分析,认为有以下几种可能:

1. 雨水传播: 同一个枝条上,寄居在种源附近下方的个体,往往大量感染死亡。这说明寄体所产生孢子,随水流沿枝条而下,触及传染。

2. 昆虫带菌传播: 刺绵蚧有分泌蜜露的习性,在蚧虫发生林分里,经常有大量蜂类、蝇类和臭蚁的活动。它们从带菌寄主体到健康虫体上取食蜜露,起着“播种”的媒介作用。1972年5月3日,我们在林间对臭蚁爬过的64头老熟母蚧作了观察,结果感病死亡的有31头。

值得指出,臭蚁等昆虫和刺绵蚧生活中有一定的联系。它们贪食甜水蜜汁,不仅要接触刺绵蚧,而且还有追踪刺绵蚧的习性。因此,探索利用蚁类等昆虫传毒来消灭蚧虫,有一定的现实意义,值得注意。

3. 寄主自相感染: 和种源同存一棵树上的个体,因迁移时触及病原而受到感染。

(三) 病菌入侵和感病后蚧体的外部征状 1972年4月27日,我们对即将产卵的266只感病母蚧作了考查。发现寄主带菌后,开始出现黄色侵染点。但入侵点多出现在虫体腹面前缘、臀裂肛口或气门等自然孔道处,背部因介壳硬化,不利于病菌入侵,故很少看到(图2,表5)。

表 5 各部位侵染点出现频率

部 位	出 现 虫 数	频 率 (%)
前 缘 1	102	38.3
臀 裂 肛 口 2	79	29.7
前 气 门 3	40	15.0
后 气 门 4	12	4.5
前后气门间 5	10	3.8
喙 突 6	10	3.8
腹 中 7	1	0.4
后 缘 8	12	4.5
合 计	266	100

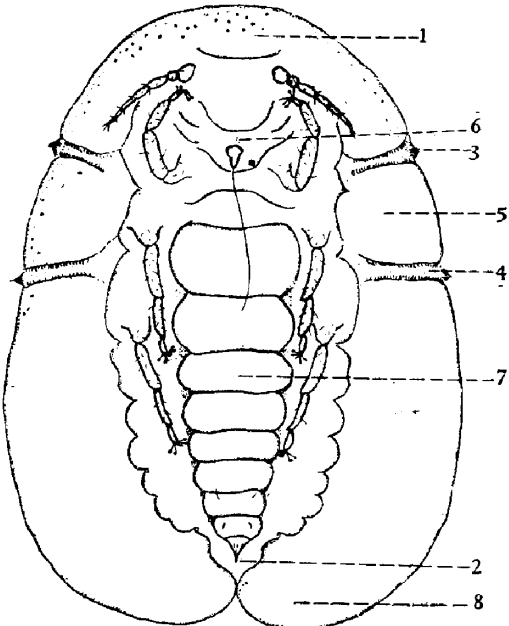


图 2 寄主带菌后侵染点出现部位(腹面)

侵染点是真菌侵入寄主体内的开始征状。接着由点扩大为病斑。初期病斑呈藤黄色,当病斑扩展到全身,体色变深,呈黄褐色。这时虫体肿胀,体壁发亮,内部组织产生干酪状或粒块样病变,不久坏死组织脱水僵化,体色又转为暗红或紫红。切片检查,可见大量菌丝体和分生孢子。但外形完好如常,腹面体节及附肢可辨。以后随着菌丝体在寄主体内大量繁殖,使虫体成丘形或葫芦形拱起,体积显著增大,呈金黄、黄褐、棕黑色不等,但内部为

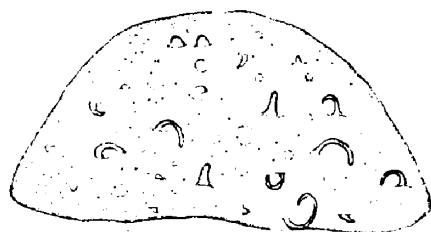


图3 自然寄体上蚘生真菌孢子堆

浅黄色。常见露珠或蜜露分泌,这时虫体已丧失原形。最大寄生虫体体积可达 $10 \times 9 \times 10$ 毫米,比原虫体大 3—5 倍,吸水膨胀后有弹性。镜检表层凹凸,并见散生圆形暗色孔口,分生孢子堆从孔口排出。孢子堆初为浅黄色乳珠状,后因水分蒸散和孢子堆不断长出,而浓缩成角状或卷曲如毛发状,从孔口伸向空间(图 3)。

病斑开始出现时,寄主能照常生活;当病斑扩展到虫体 $1/3$ 左右即丧失生命,但个别还见附肢摆动。一个寄主病斑从体大的 $1/10$ 扩大到全身需要 3 天时间。初步认为,由于病原入侵,通过菌丝体生长繁殖,致使组织变性坏死,这是造成寄主死亡的主要原因。

二、本菌形态及培养特征

(一) 形态特征 菌落为蛋黄色高度拱起,表面茸毛状,老化后变黄褐色。菌丝线形,有分隔,直径 $1.8-2.5$ 微米,丝内充满发亮颗粒。有时菌丝体形成菌索,此时外观多呈绒毛状(图 4—5)。

分生孢子梗由菌丝膨大而成,葫芦形或瓶形,长 $10-16$ 微米,宽 $3-5$ 微米,上有 $1-3$ 个小梗。小梗着生在膨大体顶端或一侧,长 $2-4$ 微米。分生孢梗可以从菌丝任何部位产生出来,很发达,常见的有单生和成团两种类型。

1. 单生: 孢梗从菌丝顶端、侧方或侧枝上发出,经常排列成行,有的成枝状分叉(图 6)。

2. 成团: 孢子梗丛生,集结成团(图 7)。

分生孢子梭形,无色单孢,长轴 $7-9$ 微米,短轴 $2-3$ 微米,两端尖锐,有油点 $2-5$ 个。其次,还见少数宽卵形孢子,直径为 $4-6 \times 2-3$ 微米,以及圆形的厚壁孢子(图 8)。

分生孢子堆腊肠状、角状或成粗毛状卷曲,遇水后,逐渐解离(图 9)。

经初步鉴定,该菌属半知菌纲 [Deuteromycetes (Fungi Imperfecti)] 丛梗孢目 (Moniliales) 束梗孢科 (Stilbaceae) 多毛菌属 (*Hirsutiella*)¹⁾, 种名暂缺。

(二) 培养特点 用下列培养基培养观察。

1. 该菌在马铃薯、蔗糖、琼脂 (PDA) 培养基上生长良好。点植后的第 3 天,基面出现毛玻璃样突起,菌落表面光滑。再过 3 天成蛋黄色,并出现灰白色疏散细毛状菌丝。10—12 天,菌落高度拱起,成丘形或圆墩形,表面凹凸,尚见针孔似的下陷小点,小点(孔)密集或散生,孢子堆从小孔中长出。菌落结构密致,质地硬而脆,蛋黄色或黄褐色,不使培养

1) 学名蒙中国科学院微生物研究所陈庆游同志鉴定。

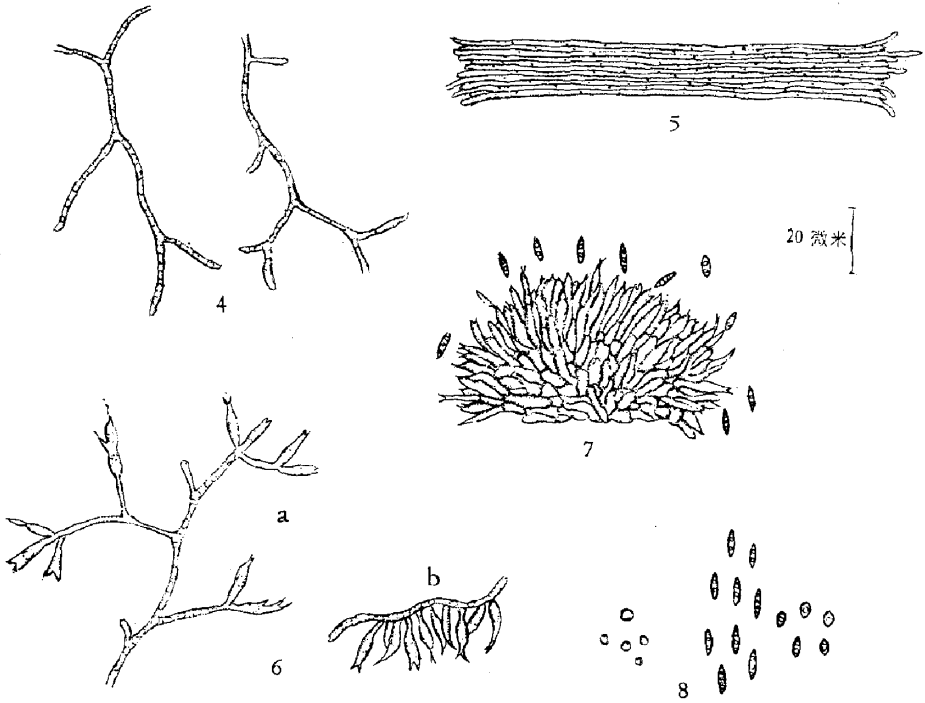


图4 菌丝 图5 菌索 图6 分生孢子梗 a. 单生, b. 排列成行
图7 分生孢子梗成团 图8 分生孢子



图9 分生孢子堆(放大)

图10 PDA 培养基上菌落

基带色或带色,酷似自然寄生虫体菌落(图10)。

2. 牛肉浸膏、蛋白胨、琼脂培养基(牛肉浸膏10克,蛋白胨3克,葡萄糖20克,水1,000毫升)生长好,能产生大量分生孢子堆。点植菌落为圆丘形突起,淡黄色,黄褐色,上部密集绒毛状菌索。

3. 里查(Richard)培养基¹⁾(硝酸钾10克,磷酸二氢钾5克,硫酸镁2.5克,硫酸亚铁0.02克,葡萄糖50克,琼脂20克,水1,000毫升)生长良好,能产生大量孢子堆。点植菌落高度耸起,表面结核状凹凸,黄褐色,灰白色,菌丝细而密,菌落附近培养基显紫褐色。

4. 用大米饭、大麦、小麦培养生长良好,能产生大量孢子,菌苔蛋黄、浅黄色、茸毛状。

1) 里查基组织中铁盐为 FeCl_3 , 无琼脂。

5. 其他天然培养基,如南瓜、冬瓜、芋头、马铃薯、甘薯块等均可生长,但较慢。此菌培养容易,能在一般培养基上生长发育,原料来源丰富,可就地取材,有利于农村土法生产。

三、林间毒力试验

(一) 不同菌液浓度对幼虫群体毒力效应 试验用菌种是从林间采集的自然寄生致死虫体上分离得到的,经提纯后将纯种移植到灭菌的大米饭上,在 26—28℃ 培养 30 天。用 1 份菌剂加 10 份水的比例,浸提 20 分钟,过滤菌液用血球计数器测定,得每毫升含孢子 1 亿。然后将菌液稀释成 50 倍、100 倍、200 倍、400 倍、1000 倍液 5 种浓度。

在立地条件一致绝无菌源情况下,选取有刺绵蚧寄居小油茶树,预先统计全株虫数,挂牌编号。共分 5 种浓度处理,每一处理重复 2 次。用卫生喷筒把菌液均匀地喷射到虫体上,以充分湿润为度,对照组喷清水。

刺绵蚧定居后,活动能力较弱,因此效果统计主要决定于虫体体色的改观。正常体色为浅黄绿色,自然死亡为肝脏颜色,受该菌寄生致死的体色初期为金黄色,后变黄褐色或灰褐色。虫体变形隆起,体积显著增大,与自然死亡有明显区别,而且致死虫体在树上不易脱落。因此统计死亡率的时候,只统计感病致死虫体是容易做到的。现将试验结果列入表 6。

表 6 不同浓度菌液对幼虫群体毒效反应 (1975)

编 号	菌 液 浓 度 (每毫升含孢子数)	供 试 虫 数	致 死 虫 数	致 死 率 (%)
I	2×10^6	583	522	89.5
II	1×10^6	466	373	80.0
III	5×10^5	533	341	63.9
IV	2.5×10^5	531	163	30.7
V	1×10^5	378	80	21.2
对 照	—	597	0	0.0

从表 6 看出,每毫升菌液含孢子数 200 万,杀虫效果为 89.5%; 100 万孢子浓度致死率为 80%。值得注意的是:林间试验经常出现的情况表明,利用浓度高低不同菌液处理虫体,开始低剂量处理组死亡率很低,只是造成局部的寄主死亡,但由于寄体的传毒(菌)作用,发挥了后期的杀虫效果,使得低浓度处理组,后期死亡率达到和高浓度处理组相接近。这是本菌利用上的另一个好的特性。

1973 年以来,我们利用分离得到的纯菌在林间对刺绵蚧作了多次反复试验,毒力一直比较稳定。而且该菌对油茶绵蚧 [*Chloropulvinaria okitsuensis* (Kuw.)] 亦有很强的致死力。是一种颇有利用前途的虫生菌。

(二) 不同月份感病性试验 1973 年 2 月开始,我们在林间对刺绵蚧进行不同月份感病性的测定,以了解该菌在各月份里的寄生力、对温湿度的要求以及潜育期长短等情况,结果看出:

1. 月平均气温 11.1℃—26.8℃,喷菌液后均能致病。2 月 12 日接种的因气温较低一直延到 3 月下旬才发病(表 7)。

2. 喷菌液后,肉眼察觉到个体死亡(虫体变色变形)为 12—46 天,一般为 20 天左右。

表 7 不同月份感病性试验

试验日期 (月·日)	菌 号	处理方法	菌液含孢数 (万/毫升)	供试虫数	寄生死亡 (%)	发病始期 (月·日)	潜育期** (天)	月均温 (°C)	相对湿度 (%)
2.12	A ₁₃ (一代) 对 照	涂 涂	1:2* —	66 37	100.0 0	3.30	46	9.3	92.9
3.30	B ₆ Ch ₂ (四代) 对 照	喷 雾 喷清水	512 —	157 105	93.6 0	4.20	20	11.1	86.2
4.7	B ₁₄ (三代) 对 照	喷 雾 喷清水	1,056 —	101 69	— 0	5.5	28	17.0	95.6
6.11	Ch ₃₃ (一代) 对 照	喷 雾 喷清水	1,633 —	2,000 500	97.8 0	7.8	27	22.4	96.5
7.19	扩 ₄ 对 照	喷 雾 喷清水	16 —	1,267 2,000	93.0 0	8.15	27	25.4	89.7
8.3	Ch ₂ -1(二代) 对 照	喷 雾 喷清水	3,200 —	1,992 1,500	100.0 0	8.15	12	26.8	90.5
9.16	730811(四代) 对 照	喷 雾 喷清水	1,900 —	1,487 500	100.0 0	9.28	12	21.8	95.8
10.8	730802(四代) 对 照	喷 雾 喷清水	3,750 —	4,518 3,485	91.5 0	10.25	17	16.9	96.8

* 1:2 = 1 份菌剂, 2 份水。

** 潜育期为接种后到初次查到感病这段期间。

死亡快慢与温湿度以及所使用菌液浓度有关。

3. 喷施菌液后, 个体感染致死时间很不一致, 有的甚至在两个月以后还陆续得病。例如 8 月 3 日这一组, 到 9 月 28 日致死率达到 100%; 而 9 月 16 日喷菌液到 12 月 5 日致死率才达到 100%。主要是因为种群中虫体陆续感染的缘故。

(三) 林间单株试验 1975 年 7 月 19 日在黄寮公社大垌大队进行了林间单株试验。实验用菌剂是将种菌接种到灭过菌的大米饭上, $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 培养 20 天。使用前, 1 份菌剂加 20 份水, 浸提 20 分钟, 过滤后所得原液含孢子量每毫升为 1,680 万个, 稀释 50 倍喷雾。对照喷清水。实验结果是: 喷洒菌液后, 27 天能用肉眼察觉其致死率为 5%; 31 天为 17.1%; 80 天致死率达到了 87.6%(表 8)。

表 8 林间单株试验

菌液稀释倍数	处理株数	总 虫 数	处 理 后 致 死 率 (%)				
			14 (天)	27	31	53	80
50	10	7,737	0	5.0	17.1	18.3	87.6
对照(清水)	5	9,270	0	0	0	0	0

讨 论

刺绵蚧多毛菌对刺绵蚧有较强的病原性。林间回接试验, 菌液浓度每毫升含孢子量

200 万左右,致死率达 90% 上下。此菌适应温度范围较广,一般情况下,3—11 月份均见致病。致死虫体对健在个体还有传毒(菌)作用。但是对本菌杀虫范围,需要认真地进行研究测定,将来使之有可能更广泛地应用于农林业生产。

此菌容易培养,固体发酵材料来源较为丰富,有利于农村土法生产,是油茶煤污病防治工作中的一条新途径。

PRELIMINARY STUDIES ON THE FUNGUS DISEASE OF THE SCALE *METACERONEMA JAPONICA* MASK.

CHENG ZHU-AN

(Ching-tian Institute of Oil Tea Research, Chekiang Province)

The fungus *Hirsutella* sp. shows a great pathogenecity to the scale *Metaceronema japonica* Mask. infesting oil tea trees in China. Although the infection can occur in the male and female individuals of different developmental stages the epizootics of the fungus usually manifest in the matured female scales.

This fungus can grow and multiply very well on some common cultural media and possesses a broad range of thermal adaptation. It can be induced to infect the scales at relative humidities above 80% and monthly thermal averages varying from 11° to 27°C.

This fungus is dispersed through the carriage of insects, especially ants, and flowing currents of rains. Once the disease centers are established the fungus spores will spread continuously towards the surroundings to form secondary centers. This fungus is considered to be valuable for the use of controlling the scales.